

РАЗДЕЛ I. ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ: ОБЩИЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: ВЛИЯНИЕ НА ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ И СОСУДИСТУЮ РЕАКТИВНОСТЬ

Дмитриева А.В., Сагач В.Ф., Богуславский А.Ю.

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, г. Киев

In the experiments on anaesthetized dogs and isolated myocardial and arterial preparations the effects of mitochondrial permeability transition pore (MPTPA) activation by phenylarsine oxide (PAO, 10-5 M) on the functional activity of myocardium and skeletal muscle were investigated. The mitochondrial-induced oxidative stress resulted in pronounced dilation both myocardial trabecula and arterial rings. The experiments with using methylen blue (10-4 M) show evidence of a soluble guanylate cyclase takes place in realization of a registered dilation. At the same time the contractile responses of isolated preparations on electrical stimulation were depressed strongly. Perfusion of the damaged isolated preparations with GSHNO (10-5 M) restored their contractility responses. Preliminary injection of exogenous MPTPA activator phenylarsine oxide (0,4 mg, ia) in a.femoralis caused the marked inhibition of an endothelium-dependent vessels dilation on skin-muscle region of rear limb. At the same time the muscle contractions force was decreased significantly. Pretreatment with an exogenous donor NO - sodium nitroprusside (0,2 mg/kg, iv) prevented considerably an inhibition of NO-dependent vessels dilation , a fall of muscle contractions force and the fatigue development of m.gastrocnemius. The exogenous GSHNO and sodium nitroprusside essentially reduced negative effects of MPTPA activation and prevented the oxidative damages development and so exerted the beneficial action on myocardium, vessels and skeletal muscles.. The mechanism or mechanisms underlying such positive action requires the further study.

На протяжении последнего десятилетия резко увеличилось количество публикаций посвященных исследованию роли митохондрий и митохондриальных пор (МП) в регуляции энергетического метаболизма и функций различных клеток [2, 6]. Твердо установлено, что ишемия/реперфузия миокарда сопровождается открытием МП и развитием дисфункции эндотелия [4, 5]. С другой стороны, NO и NO-содержащие

соединения, прежде всего нитрозотиолы, являются основными эндотелиальными аутокоидами, регулирующими сосудистый тонус, а также принимают активное участие в регуляции функции митохондрий [3]. Поэтому целью предпринятого нами исследования стало изучение влияния активации МП на функциональное состояние изолированных миокардиальных и сосудистых препаратов *in vitro*, на кровообращение в кожно-мышечной области *in vivo* и роли NO в этих процессах.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены *in vitro* на суперфузированных трабекулах из ушка правого предсердия (ТР) и кольцевых полосках из сонных артерий (Ар) морских свинок в двухкамерной системе, которую последовательно перфузировали модифицированным раствором Кребса-Хензелейта при температуре 30-31°C. Электрическую стимуляцию препаратов проводили с параметрами 5 Гц, 50 мс, 30 В.. Оксидативный стресс моделировали с помощью инкубации миокардиальной трабекулы в растворе фениларсин оксида (ФАО, 10^{-5} М) в течение 2-3 мин. или введения 0,4 мг ФАО в бедренную артерию собаки в условиях прекращения кровотока на 2-3 мин. В экспериментах на собаках регистрировали давление и кровоток (Кр) в бедренной артерии, а также силу сокращений икроножной мышцы. Полученные данные обработаны с помощью критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение.

Как показано нами ранее, инкубацию ТР в растворе ФАО и последующую ее реперфузию контрольным раствором можно рассматривать как легко воспроизводимую модель ишемических/реперфузионных повреждений миокарда и периферических сосудов. Полученные данные свидетельствовали о качественном подобии происходящих процессов [1]. Реперфузия преинкубированной с ФАО ТР раствором с метиленовым синим (10^{-4} М) предотвращала развитие глубокой дилатации изолированных препаратов. Тоническое напряжение ТР в этих условиях снижалось лишь на $0,72 \pm 0,5$ мН, а Ар повышалось на $0,58 \pm 0,3$ мН, что достоверно меньше, чем в контрольных экспериментах. Следовательно, дилатация изолированных препаратов под влиянием оттекающего от поврежденной ТР перфузионного раствора реализуется в значительной степени через активацию растворимой гуанилатциклазы.

Следующая за инкубацией с ФАО последовательная реперфузия изолированных препаратов сопровождалась не только глубоким снижением тонического напряжения ТР и Ар, но и резкими изменениями сократительных ответов на электрическую стимуляцию. Стимуляция вызывала повышение тонического напряжения преинкубированной с ФАО ТР на $0,13 \pm 0,79$ мН, а Ар - на $2,33 \pm 0,5$ мН, по сравнению с $3,52 \pm 0,67$ мН и $1,11 \pm 0,13$ в интактных условиях. Приведенные данные свидетельствуют о

резком угнетении сократительной реакции ТР на электрическую стимуляцию под влиянием активации МП. В следующей серии экспериментов реперфузию преинкубированной с ФАО ТР осуществляли перфузионном раствором с нитрозоглютатионом (GSNNO , 10^{-5} М). Это незначительно уменьшало падение тонического напряжения Тр и Ар в процессе реперфузии, но почти полностью восстанавливало сократительные реакции изолированных препаратов. ТР в ответ на электрическую стимуляцию повышала тоническое напряжение на $3,76 \pm 0,39$ мН, а Ар - на $2,3 \pm 0,15$ мН. Следует однако отметить, что если амплитуда сокращения ТР практически не отличалась от контрольных величин, то сократительная реакция Ар в этом случае была достоверно выше ($p < 0,05$) зарегистрированной в контрольных условиях. Это, по нашему мнению, свидетельствует об угнетении модулирующего влияния эндокарда ТР на Ар-реципиента под действием ФАО, которое не могут восстановить в полном объеме экзогенные нитрозотиолы.

В экспериментах на собаках введение ФАО в бассейн бедренной артерии приводило к уменьшению эндотелий-зависимой реакции рабочей гиперемии. После активации МП рабочая гиперемия при стимуляции икроножной мышцы с частотой 8 Гц составляла 15% (26% в контроле), а при частоте стимуляции 40 Гц была равна 33% (51% в контроле). При этом сила мышечных сокращений снижалась от $5,1 \pm 0,3$ Н/кг в контроле до $2,7 \pm 0,28$ Н/кг под воздействием ФАО при частоте стимуляции 8 Гц. В условиях стимуляции с частотой 40 Гц сила сокращений снижалась соответственно с $8,08 \pm 0,56$ Н/кг до $3,7 \pm 0,3$ Н/кг. Представленные данные свидетельствуют, что, как и в экспериментах на изолированных препаратах, активация МП приводит к развитию дисфункции эндотелия и нарушению сократительных реакций скелетных мышц.

Предварительное в/в введение нитропрусида натрия в дозе 2 мг/кг (за 30 мин. до введения ФАО) в значительной степени восстанавливало силу сокращений скелетной мышцы в ответ на электрическую стимуляцию. В то же время реакция рабочей гиперемии была достоверно выше зарегистрированной в условиях активации МП и составляла 45,3% и 50%, соответственно стимуляции с частотой 8 и 40 Гц. Аналогичное влияние оказывало предварительное введение нитропрусида натрия на модели мышечного утомления, развитие которого также сопровождается активацией МП. В контрольных условиях в серии из 10 стимуляций с частотой 8 Гц сила мышечных сокращений начинала снижаться, начиная со 2-3 стимуляции, и к 10-й она составляла в среднем 65% от первоначальной величины. Предварительное введение нитропрусида натрия качественно изменяло характер мышечных сокращений, прогрессирующего снижения силы сокращений в этом случае не происходило. Приведенные данные свидетельствуют, что в целостном организме активация МП также приводит к ухудшению функционального

состояния сосудистого эндотелия и угнетению мышечных сокращений. С другой стороны, доноры NO способны в значительной степени уменьшать повреждающее влияние оксидативного стресса, инициированного активацией МП, на сосуды и миокард.

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет нам сделать следующие выводы. Оксидативный стресс митохондриального происхождения вызывает развитие дисфункции эндотелия и угнетение сократительных реакций, как миокарда, так и скелетной мышцы. Поврежденная миокардиальная трабекула освобождает NO-содержащий фактор, способный оказывать протективное действие на сосуды. Такое же действие оказывают экзогенные нитрозоглютацион и нитропрусид натрия. Механизм или механизмы, лежащие в основе такого позитивного действия требует дальнейшего изучения.

Литература

1. Дмитриева А.В., Сагач В.Ф., Надточий С.Н., Богуславский А.Ю. Депрессорный фактор, освобождающийся из ишемизированного сердца, является NO-содержащей структурой. // Пурины и монооксид азота.- Минск, Технопринт.- 2003.- С.28-30.
2. Acuna-Castroviejo D., Martin M., Macias M., Escames G., Reiter R.J. Melatonin, mitochondria and cellular bioenergetics. // J. Pineal Res.- 2001.- 30.- P.65-74.
3. Borutaite V., Morkuniene R., Brown G.C. Nitric oxide donors, nitrosothiols and mitochondrial respiration inhibitors induce caspase activation by different mechanisms // FEBS Letters.- 2000.- 467.- P.155-159.
4. Korge P., Goldhaber J.I., Weiss J.N. Phenylarsine oxide induced mitochondrial permeability transition, hypercontracture, and cardiac cell death. // Am. J. Physiol. - 2001.- 280.- P.H2203-H2213.
5. Murphy A. Mitochondria in human disease. // The Biochemist.- 2000.- 4. - P. 29- 34.
6. Skulachev V.H. Mitochondrial physiology and pathology: Concepts or programmed death of organelles, cells and organisms // Mol. Aspects Med.- 1999.- 20.- P. 139-184.

ОКСИД АЗОТА И ТРАНСПОРТ КИСЛОРОДА КРОВЬЮ

Зинчук В.В., Глебов А.Н.

Государственный медицинский университет, г. Гродно

The reaction of nitric oxide (NO) with hemoglobin leads to synthesis of methemoglobin, nitrosylhemoglobin ($\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$) and S-nitrosohemoglobin (SNO-Hb). The blood oxygen - binding properties affect the state of the L-arginine-NO system, but this system also can determine the hemoglobin